

Aus der Wilhelm-Conrad-Röntgen-Klinik
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktor: Professor Dr. Dr. G. Barth

**Therapie des letalen Strahlenschadens
mit Actihaemyl® im Tierexperiment**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Henning Lotz
aus Bissens (Kr. Büdingen)

Gießen 1968

1969
—

Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Wilhelm-Conrad-Röntgen-Klinik
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktor: Professor Dr. Dr. G. Barth

**Therapie des letalen Strahlenschadens
mit Actihaemyl® im Tierexperiment**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen



vorgelegt von
Henning Lotz
aus Bissens (Kr. Büdingen)

Gießen 1968



Dekan: Prof. Dr. H. Rettig

Referent: Prof. Dr. Dr. G. Barth

Correferent: Prof. Dr. J. Krocht

Datum der mündlichen Prüfung: 12. März 1969

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1.1. Einführung.....	5
1.2. Pharmakologie.....	5
2. Experimenteller Teil.....	6
2.1. Versuchsplanung.....	6
2.2. Spezielle Methodik.....	7
2.2.1. Versuchstiere.....	7
2.2.2. Bestrahlungstechnik.....	7
2.2.3. Medikation.....	8
2.2.4. Beurteilungskriterien.....	8
3. Ergebnisse.....	9
3.1. Bestimmung einer DL 95-100 ₍₃₀₎ unter Verwendung einer 200 kV-Strahlung.....	9
3.2. Variation der Injektionszeitpunkte bei 600 R Ganzkörperbestrahlung und konstanter hypertoner Actihaemyl-Dosierung.....	13
3.3. Variation der Injektionszeitpunkte bei 650 R Ganzkörperbestrahlung und konstanter isotoner Actihaemyl-Dosierung.....	13
3.4. Variation der Actihaemyl-Gesamtdosis bei 600 R Ganzkörperbestrahlung.....	17
3.5. Wiederholungsversuch zur Reproduzierbarkeit.....	26
3.6. Ganzkörperbestrahlungsdosis-Variation unter konstanter Medikament-Dosierung.....	28
3.7. Überprüfung des "cage-effect" bei Bestrahlung mit 150 kV Energie.....	31
3.8. Hämatokritwerte nach 600 R Ganzkörperbestrahlung bei konstanter Medikament-Dosierung.....	37
3.9. Einfluß der Ganzkörperbestrahlung auf die spezi- fischen Knochenmarkszellen unbehandelter und mit hypertoner Actihaemyl-Lösung 20 mal nach einer Ganzkörperbestrahlung von 600 R bei 150 kV und 20 mA injizierter Mäuse.....	39

	Seite
4. Diskussion.....	46
4.1. Allgemeine Gesichtspunkte zur Strahlen- wirkung.....	46
4.2. Spezielle Actihaemyl-Angriffspunkte.....	45
5. Zusammenfassung.....	50
Literaturverzeichnis.....	51
Statistischer Anhang.....	56

Therapie des letalen Strahlenschadens mit Actihaemyl[®]*) im Tierexperiment

1.1 Einführung

Erholungsstudien an verschiedenen strahlenbiologischen Modellen nach Strahleneinwirkung zeigten stets eine beschleunigte und gründlichere Regeneration strahlenbelasteter gesunder Gewebe unter Actihaemyl-Behandlung (2,3, 17,18,20,33,39,55,75,76,77). Da die betroffenen Organismen vorwiegend lokal mit hohen, kurativen Strahlendosen belastet wurden, stand als Beurteilungsparameter für eine wirksame Actihaemyl-Zusatz-Medikation die Haut- bzw. Schleimhautreaktion im Vordergrund. Dieses Kriterium wurde von der Kenntnis rascherer Wundheilung unter Actihaemyl abgeleitet (7,13,14,15,19,22,23,24,25,28,32,38,40, 41,42,43,44,50,51,54,57,66,67,71,72,73,74).

1.2 Pharmakologie

Actihaemyl, ein eiweißfreier Extrakt mit hoher RES-Aktivität, ist eine klare, hypertone wässrige Lösung mit schwach alkalischem pH-Wert (7,2) und einem Trockengewicht von 40 - 45 mg%/ccm. Davon entfallen rund 30 % auf organische Bestandteile. Unter den bis jetzt analytisch ermittelten organischen Substanzen finden sich neben 17 Aminosäuren, Oxysäuren, Desoxyribosiden, reduzierenden Zuckern, aromatischen Verbindungen und Purinderivaten einige bisher nicht identifizierte Polypeptide, deren Molekulargewichte 2500 - 3000 nicht überschreiten und die zum Teil im Normalblut nicht vorhanden sind (genaue quantitative Angaben der Zusammensetzung (vgl. 29,30).

*) Im Ausland SOLCOSERYL[®];
Die Überlassung des Präperates verdanke ich der
Firma Hormon-Chemie München.

Am durchbluteten Froschherzen in situ ((Vena-cava-Frosch) zeigte das Präperat in höheren Konzentrationen eine negativ-inotrope, also kontraktilitätsmindernde Wirkung, wie sie höheren ATP-Dosen eigen ist. Schlagfolge und Amplitude des isolierten Froschherzens werden mit niedrigen Actihaemyl-Konzentrationen (Verdünnung = $1 : 10^4$ bzw. 10^6) wieder normal (37,68). Der Blutdruck von Ratten und Kaninchen wird nicht beeinflußt. An der Laewen-Trendelenburgschen Durchströmungsleber wird das Durchströmungsvolumen mit isotoner Actihaemyl-Lösung bis zu 100 Prozent gesteigert. An der Acetylcholin-Kontraktion des isolierten Meerschweinchendarms wirkt 1 ccm Actihaemyl etwa ebenso stark kontraktionslösend wie 600 AMP. Auch am isolierten, histaminisierten Hühnercolon zeigt Actihaemyl eine AMP-artige Wirkung.

Da bisher keine quantifizierbaren Angaben über das Verhalten eines Organismus nach tödlicher Ganzkörperbestrahlung unter Actihaemyl-Einfluß vorliegen - lediglich positive Ergebnisse über signifikant geringere Actihaemyl-bedingte Augenstrukturveränderungen nach Ganzkörperbestrahlung (11,48) - wurde besonders im Hinblick auf praktische Bedürfnisse, wie Behandlungsmöglichkeiten von Strahlenunfällen, das Ganzkörperbestrahlungsmodell gewählt.

2. EXPERIMENTELLER TEIL

2.1 Versuchsplanung

Unter Berücksichtigung der allgemeinen Schädigung des Organismus durch ionisierende Strahlung und des besonderen Wirkungsmechanismus von Actihaemyl wird geprüft werden, ob das akute Strahlensyndrom nach Einwirkung einer DL_{100} (30) hinsichtlich Überlebensrate, Gewichtsentwicklung, Knochenmarksschädigung und Zell-Plasma-Relation

beeinflußbar ist.

Die Gruppe I beschäftigt sich mit Absterbeordnungen für gesunde und unbehandelte weibliche Mäuse des Koloniestammes NMRI/Han bei Bestrahlungsdosisvariationen zwischen 350 R und 700 R.

In der Gruppe II wird versucht, einen Wirkungsunterschied zwischen isotonem und hypertonem handelsüblichen Actihaemyl herauszuarbeiten.

Die Gruppe III umfaßt die Wirkungsbreite des Actihaemyl durch Variation der Applikationsfrequenz und der Bestrahlungsdosishöhe. Dabei werden zur Teilklärung des Wirkungsmechanismus bestimmt:

- a) Absterbeordnungen in Einzel- und Koloniehaltung der Tiere im Vergleich zu Bestrahlungskontrollen zur Frage des "cage-effect" (59,70).
- b) Körperindividualgewichtsentwicklung bei Einzelhaltung der Tiere.
- c) Hämatokritwerte.
- d) Zellpopulationskinetik des Markes.

2.2. Spezielle Methodik

2.2.1. Versuchstiere:

Es wurden weibliche Mäuse des Stammes NMRI/Han (Zentralinstitut für Versuchstierzucht, Hannover-Linden) mit Gewichten zwischen 18 u. 22 g entsprechend einem Alter zwischen 5 u. 6 Wochen verwendet. Haltung in Makrolon-Käfigen bis zu 20 Tiere bei 20° C - 40° C Raumtemperatur. Fütterung mit Altromin-r-Standarddiät und Wasser ad libitum; einwöchige Quarantänezeit; Pseudomonasinfektionen blieben unberücksichtigt.

2.2.2. Betrachtungstechnik:

- 2.2.2.1. Röhre Typ 250/20 f Kohlersches Pendelgerät der Siemens-Reiniger Werke AG. Tiefentherapiebedingungen: 200 kV, 20 mA, Filter 0,5 mm Cu; 1,05 mm Cu HWD. Dosisleistung:

64 R/min bei Fokus-Haut-Abstand von 57 cm.
Bestrahlungskäfig: Glasphantom, 20 cm Ø.

2.2.2.2. Röhrentyp MÖD 150 Be, MG 150 der C.H.F. Müller GmbH, Hamburg, modifiziert nach (4); 150 kV, 12 mA, Filter 0,5 mm Cu, 0,71 mm Cu HWD, Dosisleistung: 80,5 R/min. bei Fokus-Haut-Abstand von 33 cm. Bestrahlungskäfig: Cellon-Kästchen.

2.2.3. Medikation:

Als Medikamente wurden das handelsübliche, leicht hypertone Actihaemyl^R in Ampullen zu je 0,2 ml und als Sonderanfertigung ein isotonisches Actihaemyl, dessen Trockensubstanzgehalt im Vergleich zur handelsüblichen Menge um ca. 1/3 reduziert wurde, benutzt. Die Einzeldosen des hypertonen Actihaemyl betrugen in der Regel 0,2 ml, mit einer Ausnahme, bei der einmalig 0,5 ml i. p. verabreicht wurde (vgl. Tab. 4 und 5 und Ergebnisteil, S. 20 u. S. 29).

2.2.4. Beurteilungskriterien:

a) Überlebensrate nach 30 Tagen

b) Gewichtsbestimmung mit Mettler-Waage auf 0,5 g Genauigkeit alle 3 Tage

c) Hämatokritbestimmung:

An jedem 5. Tag nach Ganzkörperbestrahlung in einem Beobachtungszeitraum von 30 Tagen wurden von je 5 lebenden, mit Äther narkotisierten Mäusen Blut der Arteria femoralis nach deren Freilegung in der Schenkelbeuge entnommen und in mit Liquemin heparinisierten Glaskapillaren der Hämatokritwert bestimmt.

d) Morphologische Knochenmarkuntersuchungen:

Die Knochenmarksgewinnung erfolgte in Äthernarkose, getrennt nach Freilegung und Spaltung beider Femora durch Aspiration des Inhaltes mit 16er Kanüle. Das so gewonnene Markaspirat wurde auf einem Objektträger in einer etwa einem Tropfen entsprechenden Menge möglichst rasch und gleichmäßig, nach vorsichtigem Trocknen mit Fließpapier, aufgetragen und ausgestrichen. Die intravitale Gewinnung sollte das Mitzählen infolge postmortalen Autolyse aus dem Markgerüst freiwerdender reticulo-histiozytärer Zellelemente vermeiden (61).

Die als typisch organspezifische Reaktion des Knochenmarks auf Noxen aller Art auftretende Hyperämie und Haemorrhagie erforderte nach Ganzkörperbestrahlung ein sehr sorgfältiges Herauspräparieren der Marksubstanz. Bei wenig ergiebigem Untersuchungsmaterial wurde nicht lediglich das Knochenmarkblut ausgestrichen, sondern sorgfältig nach Marknestern gesucht (62). Die Ausstriche wurden luftgetrocknet und nach May-Grünwald gefärbt. Innerhalb von 30 Tagen wurden in 5-tägigen Abständen die quantitativen Änderungen

spezifischer und unspezifischer Markzellen verfolgt. Differenziert wurden je 100 Zellen pro Ausstrich. Für jedes Tier wurden die auf 2 Präparaten gefundenen Zellnester durchmustert, da an den Ausstrichrändern eine artefiziell bedingte Vermehrung der Reticulumzellen vorzuliegen pflegt (63).

- e) Die statistische Prüfung der Ergebnisse erfolgte für Prozentwertdifferenzen und unkorrelierte Mittelwerte mit dem t-Test (21,26).

3. ERGEBNISSE

3.1. Bestimmung einer DL 95-100 (30) unter Verwendung einer 200 kV-Strahlung

Je 50 Mäuse (vgl. Tab. 1, S. 10) mit Ausgangsgewichten von 18 - 22 g wurden in 7 Gruppen mit 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650 und 700 R einmalig ganzkörperbestrahlt. Tab. 1 und Abb. 1 zeigen die ermittelte Dosis-Wirkungs-Relation. Bei linear ansteigender Bestrahlungsdosis erhält man die übliche Galton-Kurve, nach der 550 R etwa einer $LD_{50(30)}$ entsprechen. Als Grenzdosis für eine $LD_{95-100(30)}$ wurden 550 R - 700 R für den verwendeten Tierstamm ermittelt. Zusätzlich wurden jeden 3 Tag Gewichtsbestimmungen zum täglich gleichen Zeitpunkt vorgenommen. Aus der graphischen Darstellung der Durchschnittsgewichte (vgl. Abb. 2, S. 12) wurden Bestrahlungsdosen erst ab 500 R radiogen depressiv wirksam. Am 15. Tag haben die mit 400 R bestrahlten Tiere das Ausgangsgewicht wieder erreicht und die mit 350 R bestrahlten Mäuse sogar um 1 g überschritten (s. Abb. 2 und Tab. 1). Sämtliche Versuchsblöcke zeigen etwa von diesem Zeitpunkt an eine kontinuierliche, wenn auch im Ausmaß unterschiedliche Gewichtszunahme bis zum 21. Tag nach Bestrahlung. Diejenigen Tiere, die einer Ganzkörperbestrahlung von 350 R, 400 R, 450 R und 500 R ausgesetzt wurden, zeigten sogar bis zum 30. Tag nach Bestrahlung bei jeder Gewichtsbestimmung eine Steigerung des Körpergewichtes. Der größte Körpergewichtsabfall lag bei den mit 450 R und mehr ganzkörperbestrahlten Tieren zwischen dem 12. und 18. Tag.

Tab. 1: Verwendete Bestrahlungsdosen unter einheitlicher Strahlenqualität zur Bestimmung eines Dosis-Effektes für den Stamm NMRI/Han anhand der 30 Tage-Mortalität und der Gewichtsentwicklung

Versuchsblock		I ₁	I ₂	I ₃	I ₄	I ₅	I ₆	I ₇	I ₈
Anzahl der Tiere		50	50	50	50	50	50	50	50
Bestrahlungsdosis R		350	400	450	500	550	600	650	700*
Bestrahlungsqualität		konstant 200 kV, 0,5 mm Cu, 20 mA							
Gemittelte Gewichts- entwicklung am Tage	3	19,5	19,5	19,0	19,0	19,0	19,0	18,5	--
	15	21,0	20,0	19,5	18,0	17,5	16,0	16,0	--**
	30	24,0	23,0	22,0	22,0	21,0	18,0	16,0	--

*) keine Gewichtsentwicklung verfolgt

**) statistische Berechnung zwischen 500, 550, 600 und 650 R mit dem t-Test (vgl. Tab. 12, statistischer Anhang)

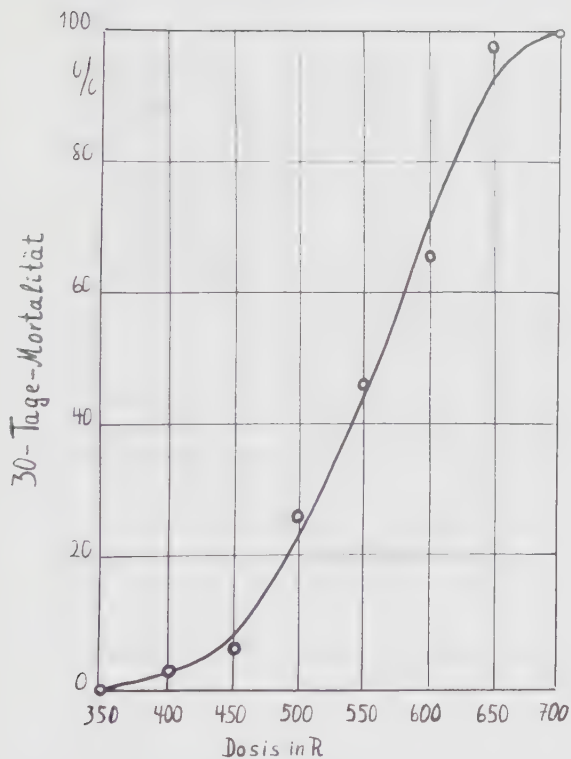


Abb. 1: Dosis-Wirkungsbeziehung für verschiedene Ganzkörperbestrahlungsdosen. 50 Mäuse des Stammes NMRI/Han pro Meßpunkt. 650 R entspricht einer LD₉₅₍₃₀₎
Strahlenqualität 200 kV, 20 mA,
1,05 mm Cu HWD

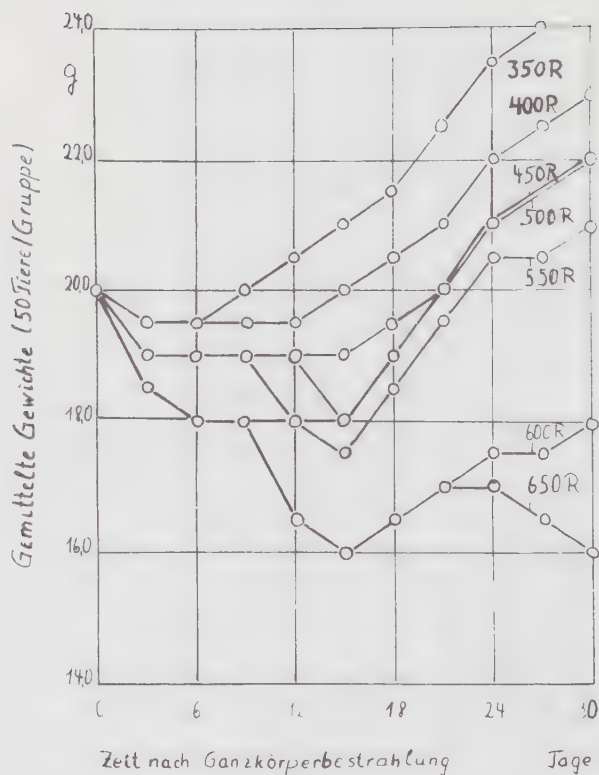


Abb. 2: Körpergewichtsänderung unter dem Einfluß verschiedener Bestrahlungsdosen. Gewichtsdifferenzen zwischen den Gruppen 500 R und 550 R im Vergleich zu den Gruppen 600 R und 650 R mit 0,1 % Irrtumswahrscheinlichkeit statistisch signifikant verschieden. Zahlenunterlagen vergleiche statistische Angaben, Tab. 12, Statistischer Anhang

3.2. Variation der Injektionszeitpunkte bei 600 R
Ganzkörperbestrahlung und konstanter hypertoner
Actihaemyl-Dosierung

Im Anschluß an die Ermittlung der Dosis-Wirkungsbeziehung wurden 180 $\frac{90}{44}$ Mäuse des Stammes NMRI/Han mit einem Durchschnittsgewicht von 20 g nach Aufteilung in Gruppen zu je 20 Tieren einmalig mit 600 R um 8^h morgens $\pm$ 1^h 30' Differenz ganzkörperbestrahlt und 0,2 ml hypertones Actihaemyl an 6 aufeinanderfolgenden Tagen intraperitoneal injiziert. Die Gabe dieses Kälberblutextraktes erfolgte in Bezug auf die Bestrahlung zu verschiedenen gewählten Zeitpunkten (s. Tab. 2, S. 14). Um eine eventuelle toxische Wirkung des Präparates zu erkennen, wurden 0,2 ml pro die über 6 Tage hinaus bis zum 30. Tag i. p. injiziert. (Beurteilungsparameter: Überlebende in Prozent, mittlere Überlebenszeit). Die laut Tab. 2 bestrahlten Tiere zeigten bei sofortiger 1-stündiger und 3-stündiger Actihaemyl-Erstinjektion nach Ganzkörperbestrahlung einen geringen, statistisch nicht sicherbaren therapeutischen Effekt im Vergleich zu Bestrahlungs-Kontrollen und späteren Erstinjektionen. Die Injektions-Kontrollgruppe zeigte bis auf eine geringe Gewichtsabnahme von etwa 1 g keine Besonderheiten.

3.3. Variation der Injektionszeitpunkte bei 650 R Ganz-
körperbestrahlung und konstanter isotoner Actihaemyl-
Dosierung

Die folgende Serie ist im Prinzip der vorausgegangenen gleich, nur daß hier isotones Actihaemyl zur Frage unterschiedlicher Wirkung durch Änderung der osmotischen Verhältnisse am Peritoneum verwendet wurde. Ferner galt es festzustellen, inwieweit im Vergleich zur Bestrahlungskontrolle eine prozentuale Anhebung oder Verringerung der Überlebensrate bei einer Erhöhung der Bestrahlungsdosis um 50 R eintritt.

Tab. 2: Übersicht über Injektionsbeginn und Injektionshäufigkeit vor beziehungsweise nach Ganzkörperbestrahlung unter Verwendung von hypertonem Actihaemyls bei konstanter Bestrahlungsdosis (600 R) und Strahlenqualität (200 kV/20mA)

Versuchsblock	II ₁	II ₂	II ₃	II ₄	II ₅	II ₆	II ₇	II ₈	II ₉	II ₁₀	II ₁₁	II ₁₂	II ₁₃	II ₁₄	II ₁₅
Anzahl der Tiere	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
hypertones Actihaemyl	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Actihaemyl-Einzel-dosis ml	-	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Gesamtdosis ml	-	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2
a) vor Bestrahlung	-	1,2	0,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
b) nach Bestrahlung	-	-	0,6	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2
1. Injektion nach Bestrahlung	-	-	-	5'	1 ^h	2 ^h	3 ^h	6 ^h	12 ^h	24 ^h	36 ^h	48 ^h	72 ^h	96 ^h	
%Überlebende am 30. Tag	25	30	25	35	30	25	40	15	15	20	25	30	25	20	100
mittlere Überlebenszeit in Tagen	19,2	20,4	19,0	19,8	19,6	17,8	20,9	15,2	15,1	17,6	16,7	19,0	18,9	17,7	30,0

Dafür wurden 300 weibliche NMRI/Han Mäuse mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 18 - 22 g nach Unterteilung in je 5 Versuchsserien zu je 50 Tieren mit 600 R und 650 R ganzkörperbestrahlt und die Actihaemyl-Einzeldosis hier auf 0,3 ml angehoben. Diese höhere Einzeldosis wurde an 6 aufeinanderfolgenden Tagen i. p. injiziert. Zur Auffindung eines optimalen Injektionszeitpunktes nach Ganzkörperbestrahlung wurde in Versuchsblock III (600 R) und IV (650 R) die Häufigkeit der Injektionszeitpunkte von 11 auf 3 reduziert (s. Tab. 3, S. 16).

Tab. 3 zeigt mittlere Überlebenszeit und Überlebende pro Gruppe der mit 600 R und 650 R ganzkörperbestrahlten Tiere nach 30 Tagen. Dabei schien auch hier bei Applikation beider Bestrahlungsdosen der Injektionsbeginn bis 3 Std. nach Bestrahlung zeitlich günstig.

In der mit Stichproben an den Tagen 3, 15 und 30 ersichtlichen Gewichtsentwicklung zeigen sich keine besonderen Unterschiede zwischen Actihaemyl-Vor- und Nachbehandlung. Das gleiche gilt für die verschieden gewählten Applikationszeitpunkte.

Tab. 3: Übersicht über Injektionsbeginn und Injektionshäufigkeit vor beziehungsweise nach Ganzkörperbestrahlung unter Verwendung isotonen Actihaemyl bei konstanter Strahlenqualität von 200 kV

Versuchsblock	III ₁	III ₂	III ₃	III ₄	III ₅	IV ₁	IV ₂	IV ₃	IV ₄	IV ₅	IV ₆
Bestrahlungsdosis		konstant 600 R					konstant 650 R				
Anzahl der Tiere	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
isotones Actihaemyl	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Actihaemyl-Einzeldosis ml	-	0,3	0,3	0,3	0,3	-	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Gesamtdosis ml	-	1,8	1,8	1,8	1,8	-	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8
a) vor Bestrahlung	-	1,8	-	-	-	-	1,8	-	-	-	-
b) nach Bestrahlung	-	-	1,8	1,8	1,8	-	-	1,8	1,8	1,8	-
1. Injektion nach Bestrahlung	-	-	5 ^h	3 ^h	24 ^h	-	-	5 ^h	3 ^h	24 ^h	
%-Überlebende am 30. Tag	30,0	16,5	33,3	40,0	36,6	6,0	3,3	6,0	13,2	9,9	100
mittlere Überlebenszeit in Tagen	17,5	15,8	18,7	21,2	20,3	11,6	9,9	11,3	14,4	13,3	30,0
gemittelte Gewichts-entwicklung am Tage 3	19,0	18,5	19,0	19,0	18,5	18,5	18,5	18,5	19,0	18,5	
15	16,0	16,0	17,5	18,5	18,0	16,0	15,5	16,0	16,5	15,0	
30	18,0	19,5	21,5	22,0	21,5	16,0	16,5	18,5	18,5	18,5	

Die Abbildungen 3 und 4 (S. 18 und S. 19) sollen einen Überblick über die Änderung des Endergebnisses bei Applikation von Actihaemyl v o r oder n a c h Ganzkörperbestrahlung vermitteln. Es ist dabei offenbar gleichgültig, ob isotones oder hypertones Actihaemyl verwendet wird, in jedem Fall sind Strahlenschutzversuche ungünstiger als therapeutische Maßnahmen, obwohl die Prozentdifferenzen zu den Kontrollen minimal sind.

Diese Voruntersuchung zeigt weiterhin, daß der therapeutische Effekt bei einer höheren Ganzkörperbestrahlungsdosis als 600 R geringer wird.

3.4. Variation der Actihaemyl-Gesamtdosis bei 600 R Ganzkörperbestrahlung

Unter Beibehaltung des intraperitonealen Injektionsmodus mit Einzeldosen von 0,2 ml wurde die Actihaemyl-Gesamtdosis variiert (vgl. Tab. 4, S. 20). Alle unbestrahlten Kontrollen (50 Tiere) mit Gesamt-Actihaemyl-Dosen von 6,0 ml über einen Beobachtungszeitraum von 60 Tagen überlebten bei normaler Gewichtsentwicklung. 450 weibliche NMRI-Mäuse in Gruppen zu je 50 mit einem durchschnittlichen Gewicht von 20 g wurden mit 600 R ganzkörperbestrahlt. Die Bestrahlungsdosis entsprach einer angenäherten $LD_{70(30)}$.

Vergleicht man die Versuchsserien, die v o r und n a c h dem Strahleninsult mit Actihaemyl behandelt wurden (V_2 , V_3 , V_4 , V_5 , V_6) mit den entsprechenden Versuchstieren der Tab. 2 (S. 14) (3 mal vor und 3 mal nach Bestrahlung injiziert), die sich gegenüber den Bestrahlungskontrollen nicht unterscheiden, so kann man einen eindeutigen Behandlungserfolg feststellen.

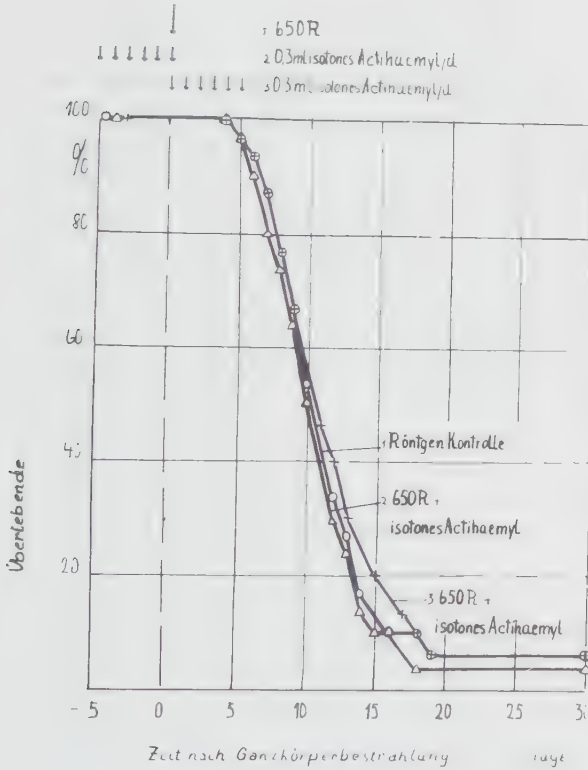


Abb. 4 Kein Unterschied zwischen Bestrahlungskontrollen und solchen mit isotonem Actihaemyl behandelten Tieren nach 650 R. Näheres siehe Text.

Tab. 4.: Variation der Actihaemyl-Dosis v o r beziehungsweise n a c h Ganz-
Körperbestrahlung unter Verwendung hypertonen Actihaemyls bei konstan-
ter Bestrahlungsdosis (600 R) und Strahlenqualität (200 kV / 20 mA).

Versuchsblock	V ₁	V ₂	V ₃	V ₄	V ₅	V ₆	V ₇	V ₈	V ₉
Anzahl der Tiere	50	50	50	50	50	50	50	50	50
Einzeldosis ml	-	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,5
Gesamtdosis ml	-	3,0	4,0	5,0	4,0	6,0	2,0	4,0	0,5
a) vor Bestrahlung	-	1,0	1,0	1,0	2,0	2,0	-	-	-
b) nach Bestrahlung	-	2,0	3,0	4,0	2,0	4,0	2,0	4,0	0,5
%-Überlebende am 30. Tag nach Bestrahlung	24,0	40,0	46,0	40,0	38,0	40,0	32,0	60,0	50,0
mittlere Überlebenszeit in Tagen	19,6	21,0	23,5	21,8	19,8	20,6	19,2	24,2	23,1
gemittelte Gewichts- entwicklung am Tage	3	19,0	17,5	18,0	19,5	19,0	19,0	19,5	18,5
	15	16,0	15,5	16,5	17,0	17,5	16,0	17,0	16,0
	30	18,0	18,0	19,5	18,5	19,0	19,0	22,0	20,0

Mäuse mit 20 Injektionen (V_8 , V_5 und V_3) zeigten eine Anhebung der Überlebensraten im Vergleich zu den nur bestrahlten Mäusen um 14 % - 36 % auf 38 % - 60 %. Innerhalb dieser drei Serien war wiederum eine deutliche Abnahme der Letalität von V_5 über V_3 nach V_8 durch Verlegung des Injektionsbeginns bei gleichbleibender Gesamtdosis in die Nähe des Strahleninsultes zu erkennen. Es wird demnach - gemessen an den unterschiedlichen Überlebenszahlen am 30. Tag - ein Wirkungsoptimum der Actihaemyl-Dosierung durchlaufen. 0,5 ml hypertone Actihaemyl-Lösung einmalig unmittelbar nach Bestrahlung appliziert, vermochte den Prozentsatz der Überlebenden um 26 % auf 50 % und die mittlere Überlebenszeit von 19,6 auf 23,1 Tage zu steigern. 25- oder sogar 30-fache Injektionen der Einzeldosen an darauffolgenden Tagen (V_4 und V_6) ließen die Letalität nicht unter 60 % sinken. Am wenigsten vermochte sich der Versuchsblock V_7 dieser Versuchsserie von der Bestrahlungskontrolle zu unterscheiden.

Obwohl am 30. Tag 8 % mehr Tiere als in der Kontrollgruppe überlebten, sank die mittlere Überlebenszeit gegenüber der Kontrolle um 0,4 Tage ab.

Bei Gegenüberstellung mit der entsprechenden Gruppe II₄ der Tab. 2 stellte sich sogar eine Senkung der Überlebensrate von 3 % heraus, die jedoch auf die unterschiedliche Zahlenstärke beider Versuchsblöcke zurückzuführen sein dürfte.

Abb. 5, S. 22 zeigt die Überlebensrate der 3 Versuchsblöcke V_1 , V_6 und V_8 . Die einer ionisierenden Totalbestrahlung von 600 R ausgesetzten Tiere weisen in den Gruppen V_1 und V_6 bereits am 10. Tag die ersten Todesfälle auf, während bei den Tieren, die die erste Actihaemyl-Injektion sofort nach dem Strahleninsult erhielten, erst am 13. Tag eine Maus am akuten Strahlensyndrom verstarb. Zwischen dem 14. und 17. Tag traten bei allen Gruppen die stärksten Verluste auf, so daß am 20. Tag nur noch 40 Prozent Tiere der Blöcke V_1 und V_6 lebten und am 30. Tag 76 % der Bestrahlungskontrollen und 60 % der Gruppe V_2 ad exitum gekommen waren.

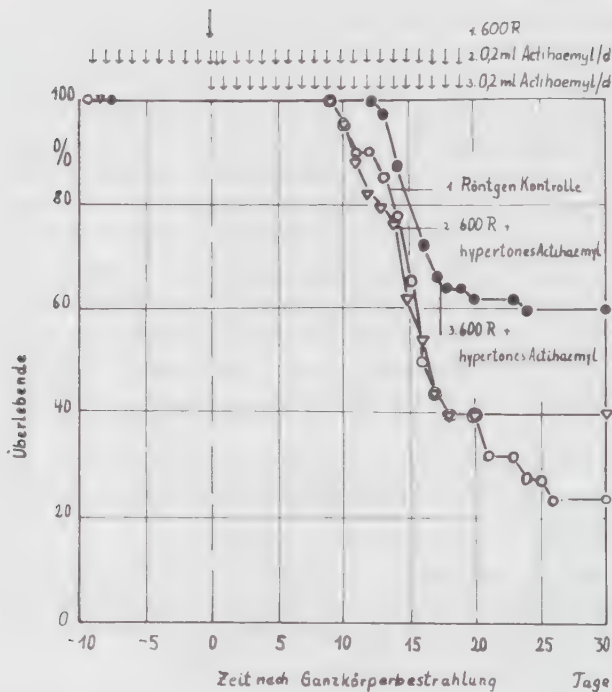


Abb.: 5. Intraperitoneale Verabreichung hypertonen Actihaemyls nur nach der Bestrahlung hebt die Überlebensrate um 36 % mit 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit signifikant an. Auch hier schlechtere Resultate bei Actihaemylapplikation v o r und n a c h der Bestrahlung.

Demgegenüber haben 60 Prozent der Mäuse, denen 20 mal nach Bestrahlung 0,2 ml hypertoner Actihaemyl-Lösung pro die injiziert wurde, die Beobachtungszeit von 30 Tagen überlebt. Die Mittelwertskurven der Körpergewichte der Versuchsblöcke V_1 und V_8 sind in Abb. 6 (S. 24) gegenübergestellt. Bei beiden Tiergruppen sinkt das Körpergewicht in den ersten 3 Tagen nach Totalbestrahlung in gleichem Ausmaß ab (s. Abb. 6). Anorexie und Diarrhoe, die auf die gastroenterologischen Strahlenwirkungen hinweisen, werden in diesem Zeitraum auch nicht durch Actihaemyl-Applikationen beeinflusst. Der Gewichtsabfall sistiert sodann bei der Bestrahlungskontrolle vom 6. Tage und bei dem Versuchsblock V_8 vom 3. Tage an bis zum 9. Tage, um anschließend erneut zu beginnen, so daß schließlich am 15. Tag die Gruppe V_1 ein minimales Körpergewicht von 16,0 g und V_8 17,0 g erreichen. Der weitere Verlauf ist durch einen rapiden Gewichtsanstieg der mit Actihaemyl behandelten Tiere bei nur geringer Gewichtszunahme der zum Teil moribunden Bestrahlungs-Kontrollen gekennzeichnet. Nach 30-tägiger Beobachtungszeit haben die Mäuse, denen Actihaemyl injiziert wurde, ein durchschnittliches Körpergewicht von 22 g erreicht, während das der nur bestrahlten Tiere 2 g unter dem errechneten durchschnittlichen Ausgangswert liegt. Die Absterbeordnungen der Versuchsblöcke V_9 und V_2 zeigen ebenso wie die Bestrahlungskontrolle zunächst einen steilen Abfall (s. Abb. 7, S. 25). Dieser mündet jedoch wieder nach etwa dem 17. Tag, besonders bei den Mäusen, denen Actihaemyl verabreicht wurde, in eine flachere Verlaufsphase. Während bei den nur bestrahlten Mäusen die Letalität bis zum 28. Tag andauerte, so daß bis zum 30. Tag nur 24 % der Tiere überlebten, kamen bei den Tieren der Versuchsblöcke V_9 und V_2 nach dem 25. bzw. 22. Tag keine Mäuse mehr ad exitum.

Im Vergleich zu den unbehandelten Bestrahlungs-Kontrollen überlebten von den 5 mal vor und 10 mal nach bzw. 5 mal vor und 20 mal nach Totalbestrahlung mit Actihaemyl behandelten Mäusen 40 %, während von den Tieren, die nur eine einzige Injektion

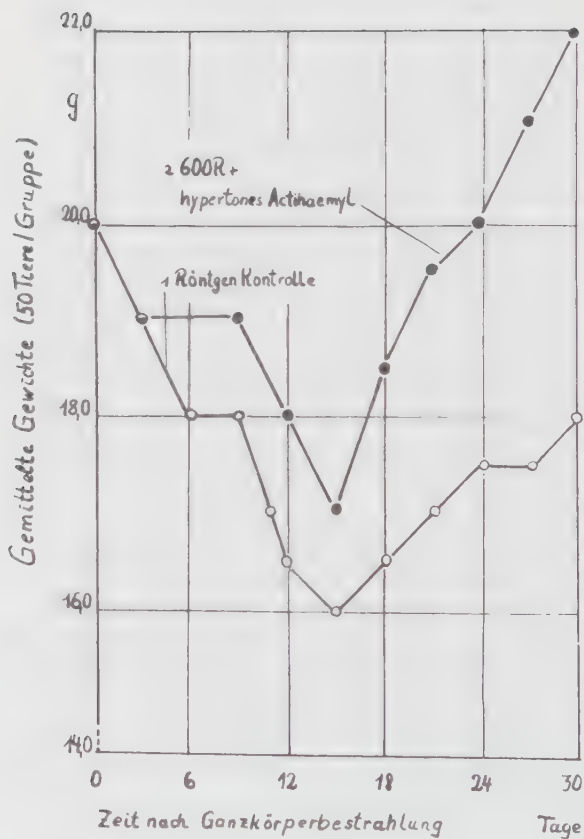


Abb.: 6: Die radiogene Gewichtsdepression der Bestrahlungskontrollen ist am 15. Tag nach 600 R im Vergleich zu Behandelten stärker ausgeprägt. Erheblicher Restschaden noch am 30. Tag im Vergleich zu behandelten Tieren, deren gemittelttes Gewicht etwa um 2 g unter der Norm liegt.

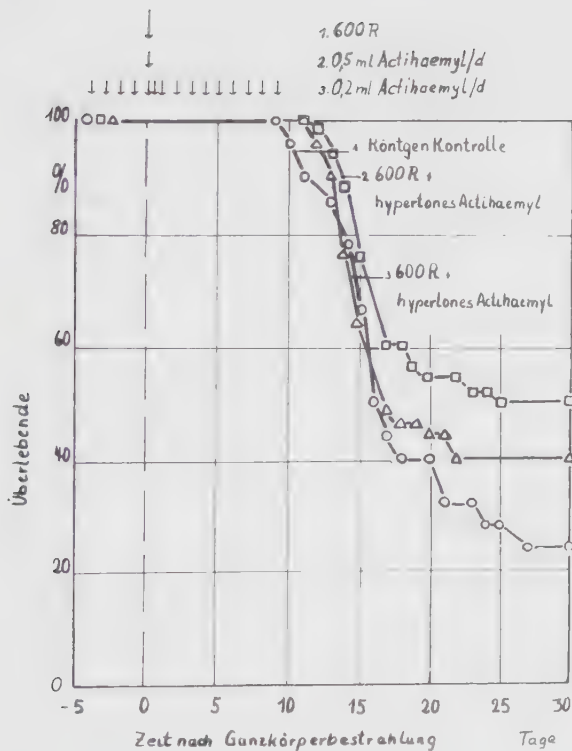


Abb. 7: Vergleich zwischen einer einmalig hohen Actihaemyl-Dosis mit einer unterteilt v o r und n a c h Ganzkörperbestrahlung verabreichten Actihaemyl-Dosis. In beiden Fällen bessere Überlebensraten. Nach Ganzkörperbestrahlung verabreichte Actihaemyl-Dosierung hebt die Überlebensrate nochmals um 10 % auf 25 % an.

1. Actihaemyl-Injektion unmittelbar nach Bestrahlung.

von 0,5 ml hypertoner Actihaemyl-Lösung unmittelbar nach Ganzkörperbestrahlung erhalten hatten, sogar 50 % nach einer Beobachtungszeit von 30 Tagen noch am Leben waren. Der Prozentsatz der Überlebensrate des Versuchsblocks V_3 vermochte sich mit 46,0 Prozent Überlebenden am 30 Tag nach Bestrahlung nicht signifikant von den Blöcken V_2 und V_4 zu unterscheiden.

3.5. Wiederholungsversuche zur Reproduzierbarkeit siehe Abb. 8, S. 27.

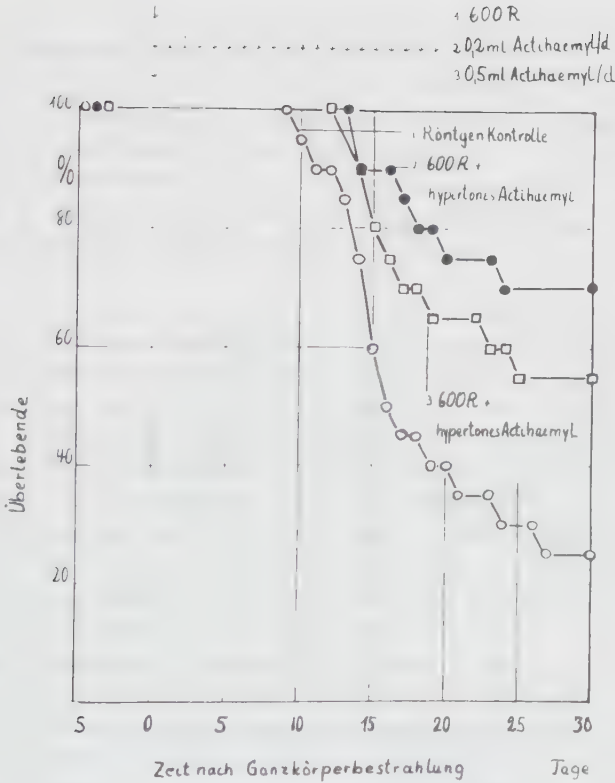


Abb. 8: Optimaler Injektionszeitpunkt 3 Std. nach Ganzkörperbestrahlung. Eine dann anschließende 20-malige Actihaemyl-Dosierung erbringt signifikant bessere Überlebensraten im Vergleich zu einer einmaligen hohen Actihaemyl-Dosierung.

3.6. Ganzkörperbestrahlungsdosis-Variation unter konstanter Medikament-Dosierung

Es ist von therapeutischem Interesse, ob bei Variation der Ganzkörperbestrahlungs-Dosis unter konstanter Actihaemyl-Dosierung sich Unterschiede in der Überlebensrate oder Abweichungen in dem Dosierungs-Schema des Actihaemyls ergeben. Es wurde dabei auf die Anwendung mehrerer Strahlendosen verzichtet. Im Rahmen des eingangs erörterten Problems war die therapeutische Wirkungsbreite des Medikamentes vor allem zum absolut tödlich verlaufenden Strahlendosisbereich (vgl. hierzu Abb. 1, S. 11) hin von Bedeutung.

Insgesamt wurden 250 ♀ NMRI Mäuse mit Gewichten zwischen 18 und 22 g nach Unterteilung in 5 Versuchsblöcke zu je 50 Tieren mit 650 R ganzkörperbestrahlt. Die Actihaemyl-Applikationen entsprachen denen der Gruppen V_9 , V_2 , V_3 und V_8 (Tab. 4, S. 20); Gesamtzahl der Injektionen, mittlere Überlebenszeit in Tagen und Prozent-Überlebende pro Gruppe, 30 Tage nach vorausgegangenem Strahleninsult, sind aus Tab. 5, S. 29 ersichtlich. Der Prozentsatz Überlebender der mit hypertoner Actihaemyl-Lösung behandelten Tiere ist im Vergleich zu den Strahlenkontrollen um das 2 - 3-fache gesteigert und damit gegenüber der vorhergehenden mit 600 R ganzkörperbestrahlten Versuchsserie erneut deutlich erhöht (s. Tab. 5). Mit einer Überlebensrate von 20 % zeigten diejenigen Mäuse, denen unmittelbar nach dem Strahleninsult in den darauffolgenden 19 Tagen täglich 0,2 ml hypertoner Actihaemyl-Lösung injiziert wurde, die stärkste Senkung der Verlustziffer gegenüber den nur bestrahlten Kontrolltieren. Aus den Absterbeordnungen der Versuchsblöcke VI_1 , VI_3 , VI_4 und VI_5 (s. Abb. 9, S. 30) ist zu erkennen, daß bei den mit hypertoner Actihaemyl-Lösung behandelten Mäusen die Letalität später einsetzt und auch in dem Zeitraum zwischen dem 10. und 20. Tag nicht solche Ausmaße erreicht, wie diejenigen der nur bestrahlten Tiere. Die hieraus resultierende Rechtsverschiebung der Absterbeordnungen der behandelten Tiere bleibt vom 5. bis

Tab. 5: Variation der Actihaemyl-Dosis vor beziehungsweise nach Ganzkörperbestrahlung unter Verwendung hypertonen Actihaemyls bei konstanter Bestrahlungsdosis (650 R) und Strahlenqualität (200 kV/20 mA)

Versuchsblock	VI ₁	VI ₂	VI ₃	VI ₄	VI ₅	VI ₆
Anzahl der Tiere	50	50	50	50	50	50
Einzel dosis ml	-	0,5	0,2	0,2	0,2	0,2
Gesamt dosis ml	-	0,5	3,0	4,0	4,0	6,0
a) vor Bestrahlung	-	-	1,0	1,0	-	-
b) nach Bestrahlung	-	0,5	2,0	3,0	4,0	-
%-Überlebende am 30. Tag nach Bestrahlung	6	10	12	16	20	100
mittlere Überlebenszeit in Tagen	14,1	15,2	15,4	16,6	17,6	30
gemittelte Gewichts-entwicklung am Tage	3	18,5	18,5	18,0	19,0	-
	15	16,0	16,0	16,5	16,5	-
	30	16,0	19,0	18,5	21,0	-

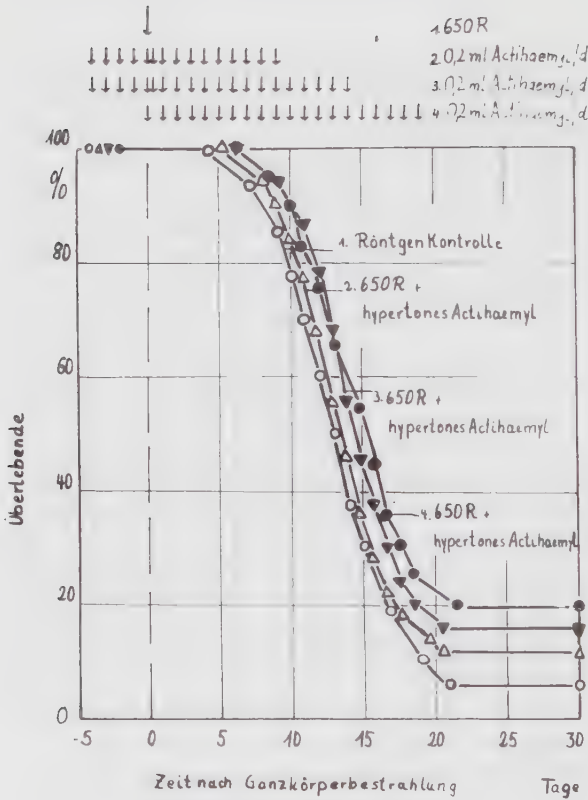


Abb. 9: Auch bei 650 R Ganzkörperbestrahlungsdosis liegen die Überlebenden unter Actihaemyl-Medikation nur im Anschluß an die Bestrahlung günstiger als vor und nach dem Insult. Unter der Strahlendosis von 650 R geringerer therapeutischer Effekt als bei 600 R.

zum 21. Tag bestehen und führt nach diesem Zeitpunkt, da keine der Mäuse mehr verendet, zu einer deutlichen Steigerung der prozentualen Überlebensrate und des durchschnittlichen Körpergewichtes (s. Tab. 5, S. 29) der behandelten gegenüber den nur bestrahlten Tieren.

3.7. Überprüfung des "cage-effect" bei Bestrahlung mit 150 kV Energie

Während die bisherigen Untersuchungen stets bei Koloniehaltung stattfanden, wurden diesmal Gewichtsentwicklung und Überlebensrate in Einzel- und Koloniehaltung nach einer einmaligen Strahlendosis von 600 R bei einer Qualität von 150 kV und 12 mA geprüft. Die Absterbeordnungen der 20 mal nach Ganzkörperbestrahlung mit Actihaemyl injizierten Mäuse in Einzelhaltung (s. Abb. 10, S. 32) gleichen den entsprechend in Koloniehaltung behandelten Tieren (s. Abb. 11, S. 33). Analog verhalten sich die parallel laufenden Bestrahlungs-Kontrollen (s. Abb. 10 und Abb. 11). Beim Vergleich der Prozentzahlen Überlebender am 30. Tag nach Bestrahlung, wie Tab. 6 (s. S. 34) zeigt, unterscheiden sich die beiden Bestrahlungskontrollen nicht, während der Versuchsblock VII₄ eine Steigerung der Überlebensquote um 10 % aufweist.

Die graphische Darstellung der Einzelgewichte zeigt einen geringeren Gewichtsverlust, mit anschließender vermehrter Gewichtszunahme der behandelten gegenüber den unbehandelten Tieren (s. Abb. 12 und 13, S. 35). Beim Vergleich der in Kolonie und Einzelhaltung bestimmten Durchschnittsgewichte ließen sich keine Schwankungen, die mehr als 0,5 g betrugen, feststellen (Abb. 14 und 15, S. 36).



Abb. 10: Unter Änderung der Strahlenqualität sowie Einzelhaltung der Versuchstiere wird bei 20-facher Actihaemyl-Medikation nach der Ganzkörperbestrahlung unter Ausschaltung des "cage-effect" die Überlebensrate im Vergleich zu den Bestrahlungskontrollen signifikant angehoben.

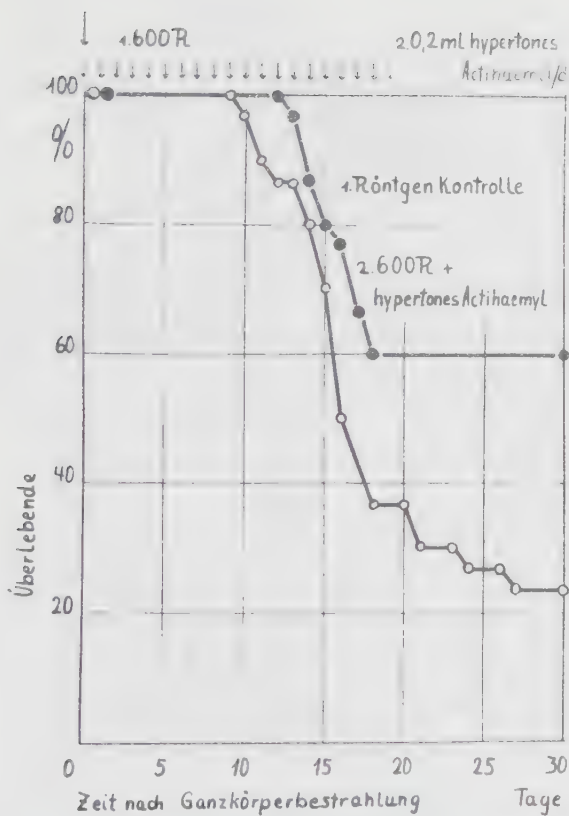


Abb. 11: Reproduzierbare Anhebung der Überlebensrate um 37 % in Koloniehaltung der Tiere unter geänderten Strahlenqualitätsbedingungen.

Tab. 6: Gegenüberstellung von Kolonie- und Einzelhaltung
nach Ganzkörperbestrahlung bei konstanter Be-
strahlungsdosis und Strahlenqualität

Versuchsblock	VII ₁	VII ₂	VII ₃	VII ₄
Strahlenqualität	konstant 150 kV, 12 mA			
Bestrahlungsdosis	konstant 600 R			
Anzahl der Tiere	50	50	20	20
Actihaemyl-Ein- zeldosis ml	-	0,2	-	0,2
Gesamtdosis ml	-	4,0	-	4,0
Haltung	Kolonie		Einzel	
%-Überlebende am 30. Tag nach Bestrahlung	-	60	25	70
mittlere Überlebens- zeit in Tagen	18,7	23,8	19,3	26,0

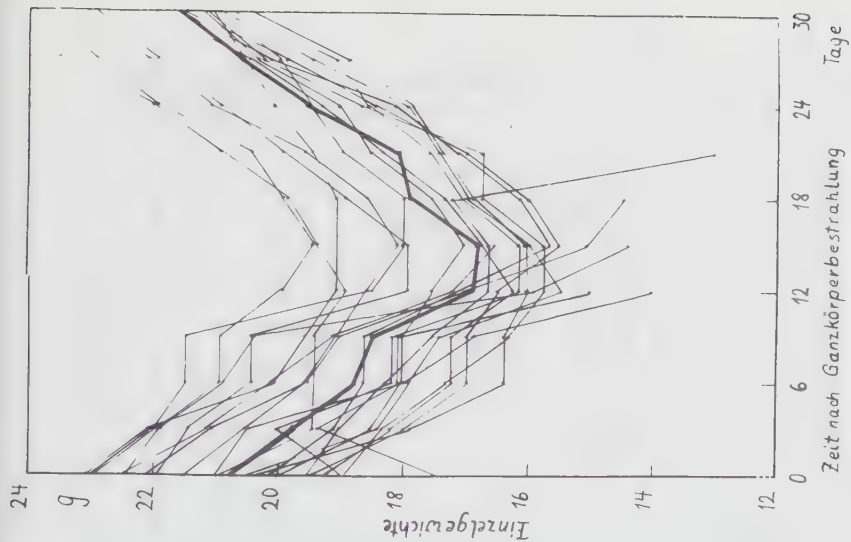
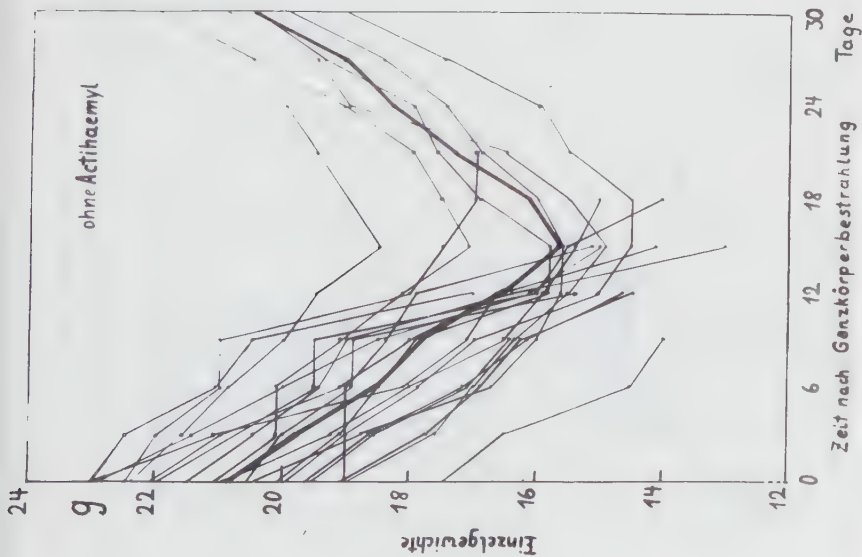


Abb. 12 u. 13: Einzelgewichtsentwicklung nach 600 R Ganzkörperbestrahlung. Keine ins Auge fallende Forcierung der Gewichtserholung im Vergleich zur Bestrahlungskontrolle.

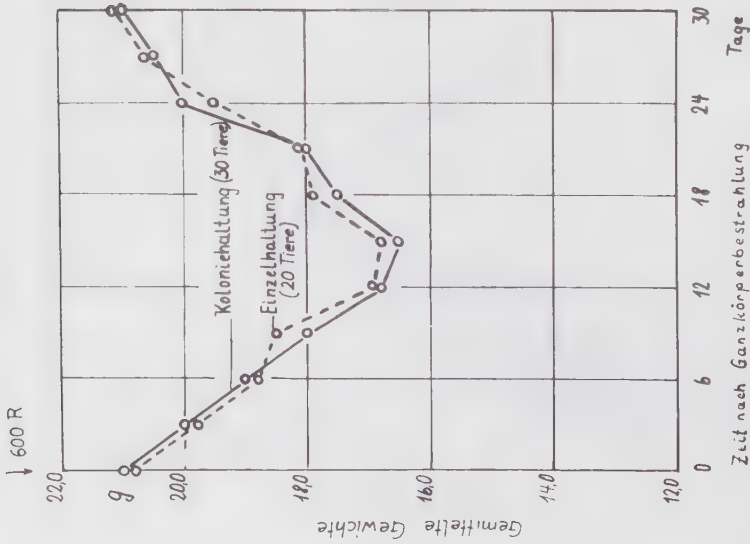
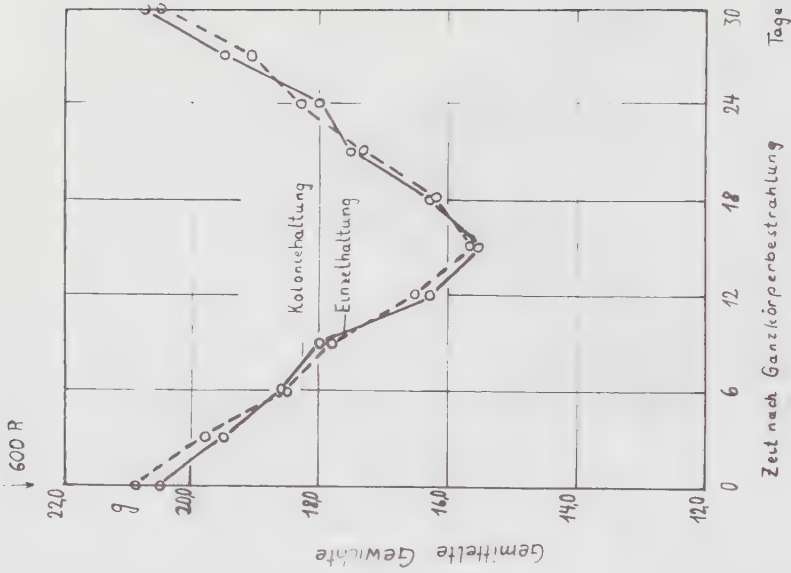


Abb. 14 u. 15: Kein Unterschied zwischen den Durchschnittsgewichten der Kolonie- und einzeln gehaltenen Tiere nach 600 R Ganzkörperbestrahlung (Abb. 14) und 20facher Actihaemyl-Behandlung (Abb. 15).

3.8. Hämatokritwerte nach 600 R Ganzkörperbestrahlung bei konstanter Medikament-Dosierung

Als Beurteilungskriterien für die als optimal gefundene Wirkungsdosis von 20 mal 0,2 ml Actihaemyl p. i. wurden als Parameter Hämatokrit und Differentialmyelogramm herangezogen. Die Hämatokritbestimmung erfolgte 1 Tag vor und an jedem 5. Tag nach dem Strahleninsult, sowohl bei unbehandelten als auch bei 20 mal nach Ganzkörperbestrahlung mit 0,2 ml hypertoner Actihaemyl-Lösung pro die intraperitoneal injizierten Tieren. Hierzu wurden 5 narkotisierten Mäusen mit einem Ausgangsgewicht von 18 - 22 g Blut aus der re. und li. Vena femoralis entnommen und anschließend aus jeweils 10 Hämatokritbestimmungen der Mittelwert gebildet. Jeder Prozentwert des Säulendiagramms (s. Abb. 16, S. 38) ist somit als das errechnete arithmetische Mittel aus 10 Einzelbestimmungen aufzufassen. Der Hämatokritwert vor Bestrahlung betrug 47 %. Bei den unbehandelten Tieren war vom 5. bis zum 20. Tag eine Erhöhung des Blutkörperchen-Volumens auf 52-53 % festzustellen. Während dieser Zeit findet man als weiteren Hinweis auf die gastroenterologischen Strahlenwirkungen eine ausgesprochene Anorexie und Diarrhoe, deren Ausmaß deutliche Beziehungen zur Gewichtsabnahme im gesamten Beobachtungszeitraum aufweist. Die Schwankung des Hämatokrit vom 5. bis 21. Tag beträgt lediglich 1 %. Nach dieser Zeit, besonders vom 20. bis zum 25. Tag, sinkt der Hämatokritwert wieder ab, ohne jedoch am Ende der Beobachtungszeit den Ausgangswert von 47 Vol. % Blutkörperchen zu erreichen. Der Hämatokritwert der mit hypertoner Actihaemyl-Lösung behandelten Mäuse steigt bis zum 5 Tag nach Bestrahlung auf 51 Vol. % an. Im Gegensatz zu den Bestrahlungs-Kontrollen erfolgt in den darauffolgenden 5 Tagen keine weitere Steigerung des Hämatokritwertes. Dieser fällt hingegen nahezu kontinuierlich vom 10. Tag an ab und liegt am 30. Tag nur 1 Vol. % höher als der Ausgangswert.

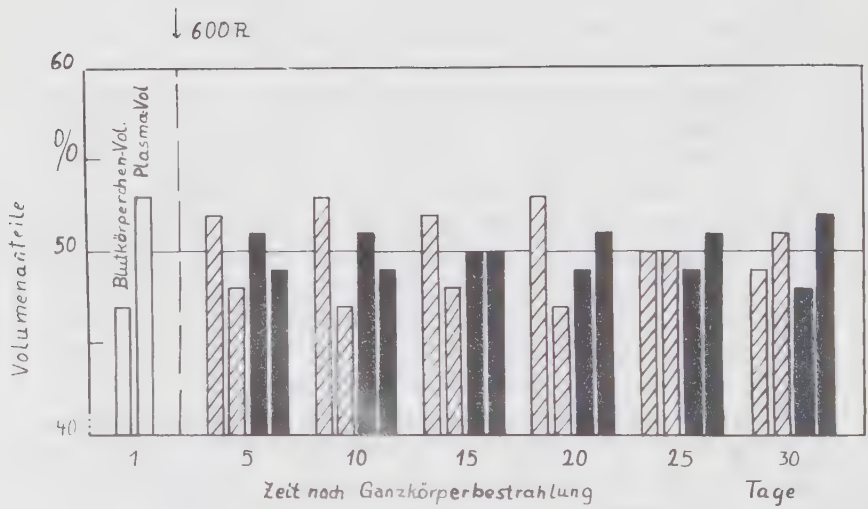


Abb. 16: 10 Tage (am 15. Tag nach Ganzkörperbestrahlung) früher einsetzende Normalisierung der Zell-Plasma-Relation unter Actihaemyl-Einfluß im Vergleich zu Bestrahlungskontrollen.

3.9. Einfluß der Ganzkörperbestrahlung auf die spezifischen Knochenmarkszellen unbehandelter und mit hypertoner Actihaemyl-Lösung 20mal nach einer Ganzkörperbestrahlung von 600 R bei 150 kV und 20 mA injizierter Mäuse (Technik s. S. 7, 8 u. 9)

In den nun folgenden Untersuchungen galt es, für den gewählten 30-tägigen Beobachtungszeitraum die Relation spez. Knochenmarkszellen zu Fettzellen zahlenmäßig zu erfassen.

Zu jeder Knochenmarksuntersuchung wurde das aus den beiden Femora gewonnene Mark von je 5 Mäusen auf ebensovielen Objektträgern getrennt aufgetragen und ausgewertet. Jeder %-Wert des Säulendiagramms (s. Abb. 17, S. 40) entspricht dem arithmetischen Mittel von 10 Knochenmarksauszahlungen zu je 100 Zellen. Vor Ganzkörperbestrahlung betrug der Anteil der Fettzellen, bezogen auf die spez. Knochenmarkszellen, lediglich 1 %. 5 Tage nach Ganzkörperbestrahlung war ein deutlicher Zuwachs ersterer gegenüber den spez. Knochenmarkszellen sowohl bei den Strahlenkontrollen als auch behandelten Tieren festzustellen. Die Zelldichte (Zahlenverhältnis der spez. Knochenmarkszellen zu Fettzellen) lag zu diesem Zeitpunkt bei den mit hypertoner Actihaemyl-Lösung behandelten Tieren lediglich um 3 % höher als die der Strahlenkontrollen. Im weiteren Verlauf der Beobachtungszeit erfolgte eine kontinuierliche Zunahme der spez. Knochenmarkszellen beider Versuchsblöcke um durchschnittlich 7 % bis zum 15. Tag nach Ganzkörperbestrahlung. Die Zelldichte der mit hypertoner Actihaemyl-Lösung behandelten Tiere war am 10. Tag um 7 % und am 15. Tag um 2 % höher als die der Bestrahlungskontrollen. Ab diesem Zeitpunkt bis zum 20. Tag nach Ganzkörperbestrahlung erfolgte bei beiden Gruppen lediglich eine Zunahme der spez. Knochenmarkszellen um 1 %.

Trotz des Anstiegs der spez. Knochenmarkszellen der unbehandelten Tiere um 10 % und der mit hypertoner Actihaemyl-Lösung injizierten Tiere um 18 % während des letzten

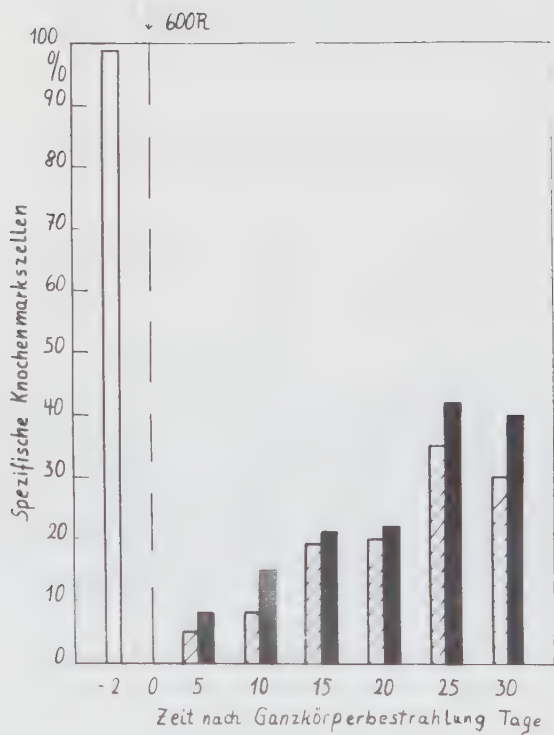


Abb. 17: Geringer Anstieg der spezifischen Knochenmarkszellen nach 600 R Ganzkörperbestrahlung. Kein wesentlicher Unterschied im Vergleich zu den Bestrahlungskontrollen.

Drittels der Beobachtungszeit konnte die vor Bestrahlung ermittelte Zelldichte nicht wieder erreicht werden.

Die in Abbildung 17 zum Ausdruck kommende stärkere Abnahme der Fettzellen unter 20maliger Actihaemyl-Behandlung, gegenüber den nur bestrahlten Tieren, ließ sich statistisch nicht sichern.

Als ein recht sicherer Parameter zur Beurteilung eines Strahlenschadens dient die quantifizierbare Relation verschiedener Zelltypen im Knochenmark und deren Repopulationskinetik. Auch diesmal wurden zur Mittelung eines Durchschnittswertes 10 Knochenmarksauszahlungen zu je 100 Zellen vorgenommen. Besonders leicht färbereich darstellbar und daher der Beobachtung über den genannten Zeitraum gut zugänglich, waren folgende Zellen: Proerythroblasten, Makroblasten, Normoblasten, Myeloblasten, Jugendliche ringkernige neutrophile Granulozyten, polymorphkernige neutrophile Granulozyten und Retikulozyten.

Die übrigen in der Tab. 7 (S. 42) angeführten Zellformen zeigten bereits unmittelbar nach dem Einfluß der ionisierenden Strahlung solche Form- und Farbabweichungen, daß keine für ein Myelogramm verwertbare Differenzierungsmöglichkeit gegeben schien.

Betrachtet man zunächst die einzelnen Stufen der Erythropoese: Proerythroblasten, Makroblasten und Normoblasten, so läßt sich bei den beiden ersteren Entwicklungsstadien eine deutliche Verminderung als Folge der Ganzkörperbestrahlung feststellen, die sich bereits nach 5 Tagen in einen Abfall beider Zellformen auf etwa den 10. Teil manifestiert. Im weiteren Verlauf (s. Tab. 8, S. 43) setzt jedoch eine deutliche Repopulation ein, die unter Actihaemyl-Einfluß am Ende der Beobachtungszeit um 0,2 % bei den Proerythroblasten und 0,5 % bei den Makroblasten gegenüber den Bestrahlungskontrollen (s. Tab. 8, S. 43 und Abb. 18, S. 44) liegt. Die Normoblasten beider Versuchsböcke zeigen zahlenerfaßbare Reduktion im Gesamtmyelogramm.

Tab. 7: Differential-Myelogramm

Zellart	Arithmetisches Mittel in %
Proerythroblasten.....	2,5
Makroblasten.....	5,6
Normoblasten.....	24,2
Myeloblasten.....	0,7
Megakaryoblasten.....	0,3
Polymorphkernige neutrophile Granulo- zyten.....	12,0
Reticulozyten.....	0,6
Eosinophile Granulozyten.....	2,8
Osteoblasten.....	23,1
Jugendliche ringkernige neutrophile Granulozyten.....	24,0
Unbestimmte wahrscheinlich weiße Vorstufen.....	4,4

Am günstigsten war der Erholungsverlauf der Myeloblasten (s. Abb. 19, S. 45), welche als Stammzellen der Granulopoese (nach Naegeli) von 0,7 % auf 0,1 % und bei den behandelten Tieren auf 0,2 % am 5. Tag nach Bestrahlung abfielen. Letztere erholten sich bis zum 15. Tag rasch auf 0,4 %, während die Bestrahlungskontrollen bis dahin unverändert geringe Myeloblastenzahlen zeigten. Am Ende der Beobachtungszeit hatten die Myeloblasten der behandelten Tiere mit 0,4 % knapp die Hälfte des Ausgangswertes überschritten.

Tab. 8: Anzahl spezifischer Knochenmarkszellen nach 600 R Ganzkörper-
bestrahlung bei konstanter Strahlenqualität (150 kV/20 mA)

Actihaemyl Einzeldosis (ml)	---	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	---	---	---	---	---	---	---
Actihaemyl Gesamtdosis (ml)	---	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	---	---	---	---	---	---	---
Tage nach Ganzkörperbestrahlung	0	5	10	15	20	25	30	5	10	15	20	25	30		
Proerythroblasten	2,5	0,2	0,5	0,6	1,2	1,2	1,1	0,1	0,3	0,2	0,9	0,9	0,9	0,9	
Makroblasten	6,5	0,7	1,2	1,6	1,9	2,0	2,3	0,6	0,9	1,0	1,5	1,9	1,8		
Normoblasten	24,0	25,0	24,0	25,0	25,0	24,0	23,0	25,0	25,0	24,0	21,5	25,0	24,0		
Myeloblasten	0,7	0,2	0,3	0,4	0,4	0,4	0,4	0,1	0,2	0,1	0,3	0,3	0,3		
jugendliche ringkernige neutrophile Granulozyten	18,0	20,0	20,0	19,0	18,0	19,0	18,0	20,0	21,0	19,0	19,0	19,0	18,0		
polymorphkernige neutro- phile Granulozyten	12,0	14,0	13,0	13,0	12,0	12,0	11,0	13,0	11,0	12,0	13,0	12,0	12,0		
Reticulozyten	0,6	0,4	0,4	0,5	0,5	0,4	0,4	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,6		

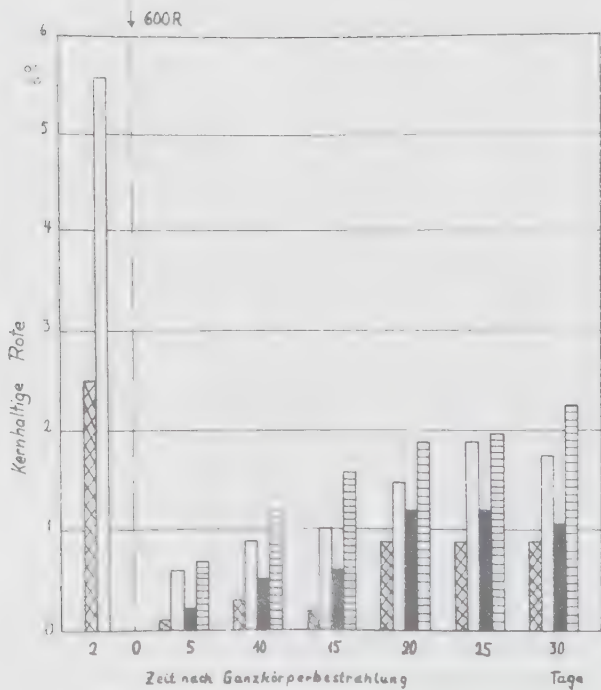


Abb. 18: Nur geringfügige Differenz zwischen Proerythroblasten und Makroblasten nach 600 R Ganzkörperbestrahlung ohne und mit Actihaemyl-Behandlung.

schräg schraffiert = Proerythroblasten ohne Actihaemyl
 weiß = Makroblasten ohne Actihaemyl
 schwarz = Proerythroblasten mit Actihaemyl
 quer schraffiert = Makroblasten mit Actihaemyl

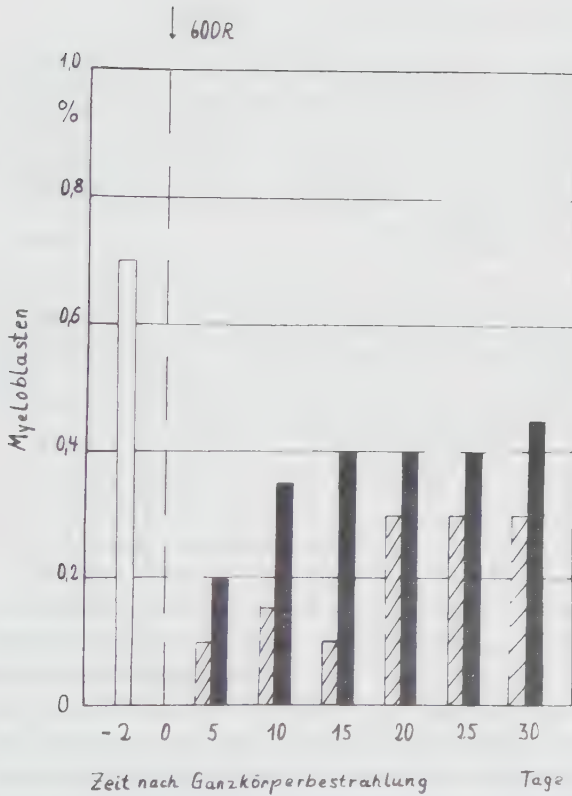


Abb. 19: Um ca. 10 Tage früher einsetzende weitgehende Erholung der Myeloblasten unter Actihaemyl-Einfluß. Der Restschaden ist im Vergleich zu Gesundwerten (weiße Säule) nur gering.

1. DISKUSSION

1.1. Allgemeine Gesichtspunkte zur Strahlenwirkung

Um genauere Aussagen über Teile des Wirkungsmechanismus von ACTIHAEMYL auf das akute Strahlensyndrom machen zu können, erschien das Erstellen einer Dosis-Wirkungskurve notwendig. Abgesehen von äußeren Einflüssen sind erbbedingte Gegebenheiten der Spezies im allgemeinen und der einzelnen Tiere speziell zu berücksichtigen.

Stützend auf gefundene Abweichungen des natürlichen Lebenslaufes einzelner Mäusestämme (52,64), besonders im Hinblick auf die geringeren mittleren Überlebenszeiten von Bruder-Schwester-Inzuchtstämmen, wurde in diesem Experiment auf den reaktionsstabilen Koloniestamm NMRI/Han zurückgegriffen.

Die Beurteilung des Strahlenreaktionsablaufes ist von den 3 Parametern: Zeitspanne bis zum Absterbebeginn, Absterbeordnungsdifferential und 30-Tage-Mortalität abhängig.

Da auch das Alter zur Zeit der Exposition zu berücksichtigen ist (36), und Fehlerquellen besonders bei 3 - 5 Wochen alten Tieren hinsichtlich der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse auftreten, wurden zur Bestimmung der 30-Tage-Mortalität möglichst gleichaltrige, jenseits der 3 Wochengrenze liegende, 6 - 8 Wochen alte Tiere benutzt. Es wurde außerdem den Beobachtungen Genüge geleistet (12), daß nur jüngere Tiere gut übereinstimmende Kriterien des erlittenen Strahlenschadens bei der Bewertung der 30-Tage-Mortalität ergeben.

Weiterhin ist eine hohe statistische Wahrscheinlichkeit für die Reproduzierbarkeit von Ergebnissen nur dann gegeben, wenn die spezielle Methodik strikt eingehalten wird, da gerade die Strahlenbiologie auf besonders schwierige Probleme der homogenen Dosisverteilung im Gewebe stößt.

4.2. Spezielle Actihaemyl-Angriffspunkte

Die Versuche erbrachten bei einer konstanten Anzahl von Actihaemyl-Einzeldosen lediglich dann eine Abschwächung des Strahlenschadens, wenn die erste Injektion nach dem Strahleninsult erfolgte. Hier erwies sich vor allem die Erstinjektion zwischen einer Stunde und drei Stunden nach Ganzkörperbestrahlung als besonders günstig und führte bei einer 20fachen Injektionsfolge zu reproduzierbar statistisch sicherbarer Anhebung der Überlebensraten. Eine Verzögerung des Injektionsbeginns über diesen Zeitpunkt war ebenso wie Actihaemyl-Gaben ausschließlich vor oder vor und nach Ganzkörperbestrahlung ohne eklatanten therapeutischen Effekt. Geringere Injektionsmengen wie 10mal 0,2 ml oder 15mal 0,2 ml Actihaemyl blieben in ihrem therapeutischen Effekt weit zurück. Daraus geht hervor, daß - ersichtlich an den unterschiedlichen Überlebenszahlen am 30. Tag - ein Wirkungsoptimum der Actihaemyl-Dosierung durchlaufen wird.

Injektionen vor Ganzkörperbestrahlung, oder vor dem Strahleninsult und anschließende Gaben, zeigten bei nur 6maliger Injektion keinerlei Wirkung auf mittlere Überlebenszeit und radiogenen Gewichtsverlust.

Den günstigsten strahlentherapeutischen Effekt zeigte Actihaemyl bei 20maliger Injektion mit Injektionsbeginn unmittelbar im Anschluß an die Bestrahlung mit 600 R Ganzkörperdosis. Bei Erhöhung der Ganzkörperbestrahlungsdosis auf 650 R nahm die Wirkung der 20maligen Actihaemyl-Injektion mit nur noch 18 %-Überlebenden bereits merklich ab.

Auch hier führte eine Vor- und Nachbehandlung mit Actihaemyl zu nur geringen Überlebensraten. Es ist dabei offenbar gleichgültig, ob isotones oder hypertones Actihaemyl verwendet wird.

In jedem Fall sind Strahlenschutzversuche ungünstiger als therapeutische Maßnahmen, obwohl die Prozent-Differenzen zu den Kontrollen minimal sind. Ein endgültiger Einfluß auf den "cage-effect" konnte statistisch nicht gesichert werden.

Faßt man das akute Bestrahlungssyndrom als eine Folge verschiedener mehrphasig ablaufender Störungen (Zellmembranstörung, Dehydratation, Stoffwechselstörung) auf, die sich zur Entwicklung des typischen Schockbildes ergänzen, so wäre Actihaemyl demnach in der Lage, in diese Vorgänge steuernd einzugreifen. Der Angriffspunkt ist in der Zelle und den Zellmembranen (8,31,45,56,58,75,79) über eine Aktivierung des oxydativen Stoffwechsels mit positiver Energiebilanz zu suchen. Es wäre somit erklärbar, daß die Sauerstoffversorgung der Gewebe nicht von einer Wirkung auf die Gefäße abhinge, sondern auf der Fähigkeit, den angebotenen Sauerstoff stärker auszuschöpfen, beruhen würde (5,9,10,53,60,65).

Ferner müßte die Möglichkeit der Verhinderung der durch Blutkapillarschädigung bedingten Haemorrhagien angeführt werden, die vor allem auch das Fehlen der blutigen Diarrhoen bei den mit Actihaemyl behandelten Mäusen erklären ließen.

Die Hämatokritbestimmungen als Gradmesser der Exsikkose lassen unter Actihaemyl die ursprüngliche Zell-Plasma-Relation schneller erreichen, während gleiche Flüssigkeitsmengen physiologischer Kochsalzlösung bei Kontrollen keine Normalisierung der Hämatokritwerte herbei führten.

Weiterhin ergibt sich aus den angeführten Knochenmarksuntersuchungen, daß die Markregeneration, besonders die Granulopoese, forciert wird.

Eine stimulierende Wirkung auf das erythropoetische System,

wie diese zum Beispiel durch Erythropoetin (16,27) auf das Knochenmark ausgeübt wird, ist nur dann zu erwarten, wenn keine totale Zerstörung des Knochenmarks vorliegt (1,6). Obwohl diese jedoch erst etwa ab 800 R eintritt und somit mit einer Aufhebung oder wenigstens Abschwächung der durch ionisierende Strahlen ausgelösten Erythropoesehemmung (34,46,47) zu rechnen wäre, scheint Actihaemyl auf die Erythrozytenvorstufen keinen fördernden Einfluß auszuüben. Die Erholungscharakteristik der Myeloblasten liegt hingegen deutlich früher und besser als bei bestrahlten Kontrolltieren.

5. Zusammenfassung

Anhand mehrerer Versuchsserien mit insgesamt 2770 Mäusen des Stammes NMRI/Han konnte bewiesen werden, daß Actihaemyl in der Behandlung des akuten Strahlensyndroms einen durchaus günstigen Effekt zeigt. Während Injektionen vor oder vor und nach Ganzkörperbestrahlung keinen therapeutischen Einfluß hatten, konnte bei Applikationsbeginn im Zeitraum bis zu 3 Stunden nach Ganzkörperbestrahlung eine statistisch sichere Anhebung der Überlebensraten und mittleren Überlebenszeit erzielt werden.

Hämatokritbestimmungen, als Gradmesser der Exsikkose nach Ganzkörperbestrahlung, in 5-tägigen Abständen über einen Beobachtungszeitraum von 30 Tagen zeigten, daß unter Actihaemyl die ursprüngliche Zellplasmarelation schneller als bei den nur bestrahlten Kontrolltieren wieder erreicht wird. Ein Einfluß auf die spezifischen Knochenmarkszellen konnte statistisch nicht objektiviert werden; jedoch schien die Erholungscharakteristik der Myeloblasten deutlich früher und besser als bei den Bestrahlungskontrollen zu liegen.

Literaturverzeichnis

1. v. Albert, H.H. Österreichische Monatshefte für ärztliche Fortbildung - Symposien
Salzburg (4. - 6. Juni 1964) S. 57 - 61
2. Balzarini, E. Strahlentherapie 117, 1000 - 1021 (1962)
3. Barth, G. Strahlentherapie 113, 584 - 594 (1960)
Graebner, H.
Strössenreuther, H.
4. Barth, G. Strahlentherapie 124, 137-141 (1964)
v. Freier, G.
Graebner, H.
Ringleb, D.
5. Barth, G. Arzneimittel-Forsch. 16, 841-847 (1966)
Graebner, H.
Kampmann, H.
Kern, W.
Noeske, K.
6. Barth, G. Arzneimittel-Forsch. 17, 763-767 (1967)
Finger, H.
Bonnke, L.
7. Borroni, M. Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. XXXVI,
694-696 (1960)
8. Breuer, H. Arzneimittel-Forsch. 12, 667-669 (1962)
9. Breuer, H. Klin. Wschr. 22, 1189-1192 (1961)
Schönfelder, M.
Schreiber, H.W.
10. Canal, N. Boll. Ocul. XXXIX, 373-378 (1960)
De Poli, A.
11. Cecio, A. Arch. Ottalm. 64, 333-358 (1960)
Menna, F.
12. Cottier, H. Strahlenbedingte Lebensverkürzung
S. 10, Berlin 1961
13. Delachaux, A. Praxis 51, 1587-1589 (1963)
Calanca, A.
14. Derlath, S. Münch. med. Wschr. 105, 1956-1957 (1963)
15. Erba, G. Res Medica 5, 1 - 27 (1959)
Cassati, C.
16. Erslev, A.J. Blood 9, 1055 (1954)
Laviates, P.

17. Fritzsche, W. Zeitschrift für Haut- und Geschlechts-
krankheiten XXX, 235-238 (1961)
18. Gaebel, E. Münch. med. Wschr. 28, 1377-1379 (1961)
Paul, O.
19. Gori-Savellini, D. Dermatologia XI, 2, 59-62 (1960)
Meloni, M.
20. Graebner, H. Strahlentherapie 124, 420 (1964)
Barth, G.
21. Graebner, H. Arch. phys. Ther. 16, 213 (1964)
Kern, W.
Gütt, H.
22. Griess, F. Wien. med. Wschr. 107, 451-452 (1957)
Stemberger, Th.
23. Griess, F. Wien. med. Wschr. 110, 313-316 (1960)
Stemberger, Th.
24. Hammerl, H. Wien, Kongreßbericht VII. Int. Congr.
Pichler, O. Int. Med. 291-294 (1963)
25. Harrer, G. Wien. klin. Wschr. 72, 23-27 (1960)
26. Henryson, St. Kleines Lehrbuch der Statistik
Haseloff, D.W. S. 115, Berlin 1960
Hoffmann, H.J.
27. Hodgson, G. Proc. Soz. exp. Biol. 99, 137 (1958)
Esküche, J.
28. Hoffmeister, H.E. Arzneimittel-Forsch. 15, 759-761 (1965)
Schlunk, P.
29. Jaeger, K.H. Klin. Wschr. 36, 441-442 (1958)
Mittentzwei, H.
30. Jaeger, K.H. Arzneimittel-Forsch. 15, 750-754 (1965)
Leybold, K.
Mittentzwei, H.
Staudinger, HJ.
v. Waldstätten, L.
31. Jipp, P. Internist 5, 245-251 (1965)
32. Kern, H. Österreichische Monatshefte für ärztliche
Obrowsky, L. Fortbildung und pharmazeutische Dokumen-
tation
33. Köhnke, F.K. Ärztl. Praxis 37, 1915-1916 (1962)

34. Künkel, H.A.
Maus, H.J. Sdbb. Strahlenth. 49, 234 (1961)
35. Langendorff, H.
Koch, R. Strahlentherapie 93, 281 (1954)
Sauer, H.
36. Langendorff, H. Strahlentherapie 129, 425-431 (1966)
Langendorff, M.
37. Lanzetta, A. Atti 3^o Congr. Int. Angiol.,
Mezzasalma, G. San Remo 24-28. Sept. 1958
38. Lanzetta, A. Arch. Ortop. LXXIII, 488-492 (1960)
Mondini, S.
39. Le Rudulier, J.L. Tirage à part des Praxis, 52^e année Nr.51,
1586-1587 (1963)
40. Lubisch, T. Bologna med. 4, 905-940 (1957/1958)
Boni, F.
Mucci, E.
41. Lubisch, T. Policlinico (Sez.-prat.) LXVII,
Civiero, G. 1381-1409 (1960)
42. Luczak, S. Med. Welt 24, 1335-1336 (1964)
43. Majorano, G.C. Cardarelli II, 385-398 (1960)
Janotti, L.
44. Mancosu, A. Giorn. Ital. Dermatol., Fax./, 92 (1959)
45. Marx, R. Internist 5, 235-245 (1965)
46. Maus, H.J. Strahlentherapie 116, 443 (1961)
Künkel, H.A.
47. Maus, H.J. Strahlentherapie 129, 263 (1966)
Künkel, H.A.
Klapheck, U.
48. Menna, F. Arch. Ottalm. 64, 423-436 (1960)
49. Meythaler, F. Österreichische Monatshefte für ärztliche
Fortbildung-Symposion,
Salzburg (4. - 6. Juni 1964) S. 69-72
50. Meythaler, F. Münch. med. Wschr. 105, 1945-1947 (1963)
Ell, O.
51. Meythaler, F. Therapiewoche 15, 2, 57 (1965)
52. Mühlbock, O. Gerontologia (Basel) 3, 177 (1959)

70. Smith, D.E.
Tyree, E.B. Amer. J. Physiol 177, 251 (1954)
71. Szirmai, E. Zeitschr. ges. Inn. Med. 14
769-772 (1959)
72. Tosetti, K. Med. Klin. 56, 356-358 (1961)
73. Ugo, A. Folis Angiol. VI, 316-321 (1959)
74. Wickingen, H. Wien. med. Wschr. 110, 90-92 (1960)
75. Wilkinn, W.E.
Cullen, G.E. J. clin. Invest. 12, 1063 (1953)
76. Wolfram, St. Mtk. ärztliche Fortbildung 9,
520-524 (1959)
77. Wolfram, St. Österreichische Monatshefte für ärztliche
Fortbildung 4, 8 - 18 (1963)
78. Wolfram, St. Österreichische Monatshefte für ärztliche
Fortbildung - Symposium
Salzburg (4. - 6. Juni 1964) S. 65-68
79. Zonta, A.
Ugazzio, G.
Campani, M. Bioch. e Biol. Sperim (Padova) 2,
63-70 (1962)

Statistischer Anhang

(Zahlenunterlagen
in Tabellenform)

Tabellen - 9 - 12

Tab. 9: Zahlenunterlagen zur statistischen Berechnung mittlerer Überlebenszeiten (vgl. Tab. 4, Ergebnisteil) mit dem t-Test

Behandlungskontrollen (200 kV)		Actihaemyl-Behandelte	
x = gelebte Tage			
30	15	30	30
30	15	30	30
30	15	30	30
30	15	30	30
30	15	30	30
30	15	30	23
30	15	30	19
30	14	30	17
30	14	30	16
30	14	30	16
30	14	30	16
30	14	30	14
30	10	30	14
24	13	30	14
21	13	30	14
21	13	30	14
21	13	30	14
21	12	30	14
21	12	30	14
17	10	30	13
16	10	30	13
16	10	30	13
16	9	30	13
16	9	30	13
16		30	12
15			

$$\bar{x}_1 = M_1 = 19,08$$

$$S_1 = 1,01$$

$$n = 98; t_{(98)} = 283$$

$$p < 0,005$$

$$\bar{x}_2 = M_2 = 23,92$$

$$S_2 = 1,087$$

Tab. 10: Zahlenunterlagen zur statistischen Berechnung der Einzelgewichtsunterschiede am 15. Tag nach Ganzkörperbestrahlung Actihaemyl-Behandelter im Vergleich zu Bestrahlungskontrollen mit dem t-Test. (vgl. Abb. 12 und 13)

Behandelte (x_1)	Bestrahlungskontrollen (x_2)
15,5	14,0
18,0	17,5
14,5	15,5
18,0	15,0
15,5	15,5
15,0	15,0
16,5	15,5
19,0	16,0
19,5	14,5
16,0	13,0
19,5	17,0
16,0	18,5
16,0	18,5
16,0	
17,0	
16,5	
16,5	
18,0	

$$\bar{x}_1 = 16,85; \sqrt{v}_1 = 17$$

$$\bar{x}_2 = 15,58; \sqrt{v}_2 = 11$$

$$t_{(28)} = 2,3209; p < 0,05$$

Tab. 11: Zahlenunterlagen zur statistischen Berechnung mittlerer Überlebenszeiten (vgl. Tab. 6, Ergebnisteil) mit dem t-Test

Bestrahlungskontrollen (150 kV)		Actihaemyl-Behandelte	
x = gelebte Tage			
30	15	30	17
30	15	30	17
30	15	30	17
30	14	30	15
30	14	30	14
30	12	30	14
30	10	30	13
27	10	30	13
24	9	30	13
21		30	12
18		30	
18		30	
18		30	
18		30	
16		30	
16		30	
16		30	
16		30	
16		18	
16		18	

$$\bar{x}_1 = 19,5$$

$$\bar{s}_1 = 0,766$$

$$v = 58$$

$$t_{(58)} = 3,999$$

$$p < 0,0005$$

$$\bar{x}_2 = 23,97$$

$$\bar{s}_2 = 0,814$$

Tab. 12: Zahlenunterlagen zur statistischen Berechnung der Einzelgewichtsunterschiede am 15. Tag nach Ganzkörperbestrahlung mit 500 R und 550 R im Vergleich zu 600 R und 650 R mit dem t-Test (vgl. Abb. 2, S. 10)

Kontrollen			Kontrollen	
500 R	+	550 R (x_1)	600 R	+ 650 R (x_2)
18,0	18,0	18,0	14,5	14,0
16,0	18,0	17,5	15,5	18,0
18,0	18,0	17,5	16,0	16,0
18,0	18,0	17,5	16,0	18,0
19,0	19,0	16,0	16,5	
18,0	18,0	17,0	16,0	
18,0	18,5	17,5	16,0	
18,5	18,0	17,5	15,5	
17,0	18,0	17,5	16,0	
18,0	18,0	18,0	16,5	
18,0	17,5	17,5	16,0	
16,0	18,0	17,5	16,0	
17,0	18,0	17,5	15,0	
18,5	19,0	18,0	16,0	
18,0	20,0	17,5	17,0	
18,0	20,0	17,5	16,0	
17,5	16,0	17,5	16,0	
19,0	17,5	19,0	16,0	
18,0	17,5	17,5	17,5	
18,0	17,5	19,0	16,0	
17,0	16,0	17,5	17,0	
18,0	17,5	19,0	14,0	
18,0	17,0	17,5	16,0	
17,5	17,5	17,0	16,0	

$$\bar{x}_1 = 17,062$$

$$\bar{x}_2 = 16,000$$

$$t_{(98)} = 482,72; p < 0,0001$$

Herrn Prof. Dr. Dr. G. Barth danke ich für
die Überlassung des Themas und Herrn
Professor Dr. R. K. Kepp, Direktor der
Univ.-Frauenklinik Gießen für die großzügige
Überlassung des Arbeitsplatzes und der Be-
strahlungsapparatur seiner Klinik in der Zeit
des Aufbaues der W. C. - Röntgen-Klinik.

Lebenslauf

Am 19. 4. 1937 wurde ich als Sohn des Studienassessors Wilhelm Lotz und seiner Ehefrau Herta, geborene Ostheim in Bissens, Kreis Büdingen geboren. Im Herbst 1944 trat ich in die Volksschule in Bad Nauheim ein. Ab Herbst 1947 besuchte ich das neusprachlich-mathematische Gymnasium in Bad Nauheim und legte dort am 20. Februar 1957 die Reifeprüfung ab. Im Sommersemester 1957 studierte ich in Gießen Mathematik, Physik und Chemie. Im Wintersemester 1957/58 belegte ich in Frankfurt Medizin. 1958 studierte ich in Gießen Medizin weiter. Im Oktober 1960 bestand ich die ärztliche Vorprüfung und am 30. März 1965 die ärztliche Prüfung. Vom 30. Mai 1965 bis 30. Juni 1966 war ich als Medizinalassistent in den Universitätskliniken in Gießen tätig. Vom 1. Juli 1966 bis 30. April 1967 verbrachte ich die übrige Medizinalassistentenzeit in der Landpraxis bei Herrn Dr. Nicolai in Ulrichstein, Kreis Lauterbach. Nach anschließender einjähriger Tätigkeit als Verwalter einer wissenschaftlichen Assistentenstelle in der Wilhelm-Conrad-Röntgen-Klinik in Gießen bin ich erneut als Assistent bei Herrn Dr. Nicolai in Ulrichstein und beabsichtige, dort eine Stelle als praktischer Arzt anzunehmen.

FOTO-DRUCK LENZ · 63 Gießen · Riegelpfad 32/Ecke Ludwigstraße
Telefon 0641-77449